

VIỆN AM DÂN CHỦ XÃ HỘI ỦY BAN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT NHÀ NƯỚC Viện Đo lường và Tiêu chuẩn	ĐỒ HỘP RAU QUẢ Phương pháp kiểm nghiệm vi sinh vật	TCVN 280 - 68  M
---	--	---------------------------

Tiêu chuẩn này áp dụng cho các đồ hộp rau, quả (dầm dấm, ngâm nước đường, mứt, v.v...) đã tiệt trùng ở nhiệt độ dưới 100°C hoặc không tiệt trùng (lạc chao dầu, tương cà chua v.v...)

Tiêu chuẩn này quy định những phương pháp kiểm nghiệm vi sinh vật sau đây:

- a) Xác định sự có mặt của vi sinh vật hiếu khí;
- b) Xác định sự có mặt của vi sinh vật kỵ khí;
- c) Phát hiện trực trùng Botulinum và độc tố;
- d) Phát hiện vi sinh vật chịu nhiệt (thermophilus).

Việc áp dụng các phương pháp kiểm nghiệm trong tiêu chuẩn này đối với một sản phẩm phải được quy định trong tiêu chuẩn hay trong một văn bản kỹ thuật về sản phẩm đó. Ngoài ra việc áp dụng đó cũng có thể được quy định trong các chỉ thị về kiểm tra vệ sinh trong công nghiệp đồ hộp.

### A. CHUẨN BỊ KIỂM NGHIỆM

1. Việc chuẩn bị để kiểm nghiệm các đồ hộp rau quả phải theo các điều 1 — 7 trong TCVN 186 — 66.

*Chú thích.* Các đồ hộp rau quả dầm dấm có thể được kiểm nghiệm ngay, không phải để trong tủ ấm.

### B. TIẾN HÀNH KIỂM NGHIỆM

#### 2. Xác định sự có mặt của vi sinh vật hiếu khí

Dùng canh thang thịt (pH = 7 — 7,4) làm môi trường dinh dưỡng, cứ với mỗi mẫu đồ hộp cấy vào 2 ống canh thang.

Sau đó để ống vào tủ ẩm ở nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$  trong 24 — 48 giờ. Theo dõi sự phát triển của vi sinh vật (canh thang đục, tạo thành màng mỏng, đáy ống nghiệm có lắng cặn v.v..).

Nếu phát hiện sự phát triển của vi sinh vật thì phải tiến hành phân lập và xác định loại vi sinh vật, chú ý các loại vi khuẩn gây bệnh và một số loại có khả năng ảnh hưởng đến chất lượng đồ hộp.

Cách phân lập và xác định loại vi sinh vật gây bệnh phải theo đúng quy định của Bộ Y tế.

### 3. Thử phản ứng hydro peroxyt

Theo điều 9 trong TCVN 186 — 66.

### 4. Xác định sự có mặt của vi sinh vật kỵ khí

Đang môi trường Tarosi làm môi trường dinh dưỡng, cứ với mỗi mẫu đồ hộp cấy vào 2 ống môi trường. Trước khi nuôi cấy đem đun cách thủy môi trường ở nhiệt độ  $100^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút, đổ lên trên mặt 1 — 2 ml dầu parafin đã tiệt trùng, sau đó làm nguội ngay môi trường ở vòi nước chảy. Môi trường đạt đến nhiệt độ  $45^{\circ}\text{C}$  thì cấy sản phẩm vào môi trường, chú ý không để bọt ở pipet đi vào môi trường. Sau đó để môi trường vào tủ ẩm ở nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$  từ 3 — 5 ngày và luôn luôn theo dõi xem có vi sinh vật phát triển hay không.

Nếu thấy môi trường bị đục hoặc nghi có vi sinh vật kỵ khí thì hút bỏ lớp parafin trên mặt bằng pipet Pastơ, làm phiến đồ, nhuộm gram và soi kính hiển vi.

Nếu thấy trên phiến đồ có vi sinh vật, cấy chuyển canh trùng sang 12 ống thạch dừa VF để trích biệt và phân lập khuẩn lạc kỵ khí. Cách làm như sau : Đun cách thủy các ống thạch dừa VF cho thạch nóng chảy rồi để nguội đến nhiệt độ  $45 - 50^{\circ}\text{C}$ . Trong 12 ống thì 8 ống để nguyên, còn 4 ống thì cứ

với mỗi ống cho thêm vào 2 giọt natri sunfit, dung dịch 20 % và 1 giọt phen sắt ( $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3, \text{K}_2\text{SO}_4, 24\text{H}_2\text{O}$ ) 5 %. 4 ống này sẽ dùng để tìm vi sinh vật kỵ khí có khả năng phân giải sunfit thành sunfua sản sinh ra hydro sunfua.

Sau đó dùng pipet Pasteur có đường kính 7 mm nhúng vào ống canh trùng Tarosi rồi lần lượt cấy canh trùng bằng cách pha loãng dần vào các ống thạch VF từ ống số 1 đến ống số 12. Các ống thạch dùng để tìm các trực khuẩn sinh hydro sunfua nên đánh số từ 1 đến 4 và các ống dùng để tìm các loại vi sinh vật kỵ khí khác thì đánh số từ 5 đến 12. Chú ý khi cấy phải dùng đầu pipet cho tới đáy ống môi trường.

Sau đó cho vào tủ ấm ở 37 °C trong 3 — 5 ngày; theo dõi sự phát triển của vi sinh vật, chú ý các loại sinh hydro sunfua.

Nếu thấy có khuẩn lạc trong các ống thạch VF thì chọn các khuẩn lạc riêng rẽ, điển hình, cách mặt thạch 2 — 3 cm, trích biệt và cấy chuyển sang canh thang VF glucoza để tiếp tục phân lập, xác định loại vi sinh vật kỵ khí và tìm độc tố. Cách phân lập và xác định loại vi sinh vật kỵ khí và tìm độc tố phải theo đúng quy định của Bộ Y tế.

Chú ý ghi vào sổ kiểm nghiệm các đặc điểm phát triển và hình thái khuẩn lạc (sinh hơi, có mùi thối, sinh hydro sunfua v.v...).

Nếu phòng thí nghiệm không đủ phương tiện để phân lập vi sinh vật kỵ khí thì sau khi phát hiện có vi sinh vật kỵ khí ở ống Tarosi hay ở ống thạch VF, có thể hàn kín đầu ống môi trường và gửi về các phòng thí nghiệm có đầy đủ phương tiện hơn để phân lập và tìm độc tố.

##### 5. Phát hiện trực trùng *Botulinum* và độc tố

Theo điều 11 trong TCVN 186 - 66.

**6. Phát hiện vi sinh vật chịu nhiệt**

Theo điều 12 trong TCVN 186 - 66.

**C. ĐIỀU CHẾ MÔI TRƯỜNG DINH DƯỠNG**

7. Cách điều chế canh thang thịt, canh thang thịt pepton, canh thang ca pepton, thạch thường, môi trường Tarosi, môi trường VF cơ bản, canh thang VF, thạch VF, thạch có 1% glucoza và 0,004% bromocresol đỏ tia phải theo các điều 13 - 22 trong TCVN 186 - 66.

**8. Điều chế dung dịch natri sunfit 20%**

Natri sunfit	20 g
Nước cất	80 ml

Hòa tan natri sunfit trong nước cất. Lọc qua nển L5 hay đun cách thủy ở 100°C trong 15 phút. Chỉ nên pha ít một để dùng dần. Đựng dung dịch trong lọ có nút thủy tinh.

**9. Điều chế dung dịch phèn sắt amoni**

Phèn sắt amoni	0,5 g
Nước cất	10 ml

Hòa tan phèn sắt trong nước cất. Tiệt trùng bằng cách lọc qua nển L5 hay màng lọc Xai-dơ (Seitz). Trường hợp không có nển L5 hay màng lọc Xai-dơ thì có thể tiệt trùng bằng phương pháp Tin-đan (Tyndall). Chỉ nên pha ít một để dùng dần. Đựng dung dịch trong lọ có nút thủy tinh màu vàng.

**ĐỒ HỘP RAU QUẢ. PHƯƠNG PHÁP KIỂM NGHIỆM VI SINH VẬT**

In 800 c. tại Liên xưởng in Minh Sang, 101 Nguyễn Khuyến Hà-nội.

Khổ 11,8×21 — Số xuất bản 033 — Số in 106s — Xong ngày 15-12-68

Nộp lưu chiểu tháng 12-1968

0,05 g